

# Redoing A0, A2, AI0, AI1, AI2

	PCR 20 µL reaction (units : u	Final Concentration						
10x thermopol reaction buffer	2,5	1X						
10 mM dNTPs	0,5	200 µM						
10 µM Forward Primer	0,5	0.2 µM						
10 µM Reverse Primer	0,5	0.2 µM		Primers:	r_Squ_ADH1gRNA			
Template (colony)	0	5 ng			f_Squ_ADH1gRNA			
DMSO (optional)	0	3 %						
Taq polymerase	0,125	1.0 units/50 µl PCR						
Nuclease-free Water	20,875							
Total volume	25							
				A0 - 20	A2 - 36	AI0 - 26	AI1 -26	AI2 - 21
Number of Reactions	7	30 samples + 1 negative control +1 extr		A0 - 21	A2 - 37	AI0 - 27	AI1 -27	AI2 - 22
				A0 - 22	A2 - 38	AI0 - 28	AI1 -28	AI2 - 23
10X Reaction buffer	17,5			A0 - 23	A2 - 39	AI0 - 29	AI1 -29	AI2 - 24
dNTPs	3,5			A0 - 24	A2 - 40	AI0 - 30	AI1 -30	AI2 - 25
r_Squ_ADH1gRNA	3,5			A0 - 25	A2 - 41	AI0 - 31	AI1 -31	AI2 - 26
f_Squ_ADH1gRNA	3,5			A0 - 26	A2 - 42	AI0 - 32	AI1 -32	AI2 - 27
Taq Polymerase	0,875			A0 - 27	A2 - 43	AI0 - 33	AI1 -33	AI2 - 28
Water	146,125			A0 - 28	A2 - 44	AI0 - 34	AI1 -34	AI2 - 29
Total volume	175			A0 - 29	A2 - 45	AI0 - 35	AI1 -35	AI2 - 30
Volume per tube	25				A2 - 46			
					A2 - 47			
					A2 - 48			
PCR program 'Y-COL-D'					A2 - 49			
Initial Denaturation	95°	7 min			A2 - 50			
	95°	30 sec			A2 - 51			
	52°	1 min			A2 - 52			
35 Cycles	67°	1 min 20			A2 - 53			
Final Extension	72°	5 min			A2 - 54			
Hold	4°				A2 - 55			